

## Розділ 11/Chapter 11

### **Заквашувальна композиція зі змішаних культур біфідобактерій для виробництва кисломолочних продуктів дитячого харчування**

**Н.А. Ткаченко , Ю.В. Назаренко , П.О. Некрасов**

#### **STARTER COMPOSITION OF MIXED CULTURES OF BIFIDOBACTERIA FOR PRODUCTION OF FERMENTED MILK PRODUCTS FOR INFANT FOOD**

**Nataliya Tkachenko <sup>\*</sup> , Julia Nazarenko, Pavlo Nekrasov**

*Odessa National Academy of Food Technology, Odessa, Ukraine*

*Sumy National Agricultural University, Sumy, Ukraine*

*National Technical University "ChPI", Kharkiv, Ukraine*

**Abstract:** The regular consumption of high quality dairy products produced using probiotic bifidobacteria cultures promotes the normalization of children's intestinal microbiocenosis and the improvement of children's immune status. In the present work the regularities were established of fermentation of adapted to milk monocultures *B. bifidum* 1 + *B. longum* Я3 + *B. infantis* 512 in sterilized milk enriched with fructose as bifidogenic factor. The recommendations for the composition of the three strain starter of mixed cultures of bifidobacteria were given: for dairy products for infant food with the highest number of viable cells of all three types of bifidobacteria – *B. bifidum* 1, *B. longum* Я3 and *B. infantis* 512 it was recommended to set the ratio of these cultures in starter composition 1 : 1 : 10, the inoculum concentration of the cultures –  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^5$  and  $1 \times 10^6$  CFU/cm<sup>3</sup>, respectively. The prospectivity of the use of the developed starter composition of mixed cultures of bifidobacteria in the technology of bifidobacteria-containing dairy products for infant food with long shelf life was experimentally proved.

**Keywords:** *infant food, bifidobacterium, fermentation, probiotic*

---

<sup>\*</sup> Corresponding author e-mail: [nataliya.n-2013@yandex.ua](mailto:nataliya.n-2013@yandex.ua)

## **Зміст**

---

### *Вступ*

*11.1. Стан споживчого ринку продуктів для дитячого харчування в Україні та перспективи його розвитку в сучасних умовах*

*11.2. Закономірності культивування монокультур адаптованих до молока біфідобактерій у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою*

*11.3. Біотехнологічні особливості культивування змішаних культур адаптованих до молока біфідобактерій у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою*

### *Висновки*

### *Список використаних джерел*

---

## **Вступ**

Рациональне харчування дітей, особливо першого року життя, є основною умовою фізичного і нервово-психічного розвитку, високого опору до різних захворювань та різних факторів навколишнього середовища. Правильна реалізація харчування з перших днів життя дитини підвищує захисні реакції її організму й відіграє важливу роль у профілактиці захворювань. Регулярне вживання якісних молочних, в т.ч. кисломолочних продуктів є обов'язковою умовою нормального розвитку дитини [1].

За оцінками експертів, в Україні лише третина дітей знаходиться виключно на грудному вигодовуванні, 38 % українських матерів кормлять дітей груддю до шести місяців та тільки 12 % – до року, а показник грудного вигодовування в нашій країні – один з найнижчих в регіоні [2]. В таких умовах одним із першочергових завдань суспільства і переробної промисловості є розробка та широке впровадження у виробництво спеціальних високоякісних біологічно повноцінних молочних продуктів, адаптованих до жіночого молока [1, 2]. Тому Міністерство агрополітики України ініціювало розробку державної цільової програми розвитку дитячого харчування в Україні на 2012...2016 рр., згідно якої передбачається збільшення внутрішніх обсягів виробництва і розширення асортименту дитячих продуктів [3]. Очевидно, що стратегічний шлях розвитку молочної промисловості, пов'язаний з виробництвом продуктів дитячого харчування, сьогодні є актуальним і своєчасним.

### **11.1. Стан споживчого ринку продуктів для дитячого харчування в Україні та перспективи його розвитку в сучасних умовах**

Ситуація на українському ринку дитячого харчування сьогодні не проста. В країні в 90-ті роки повністю зруйнували радянську систему забезпечення дітей харчуванням. Тривалий час втрачену систему нічим не заміняли. На ринку створився вакуум, на який спочатку відреагували західні компанії, а потім серйозно зацікавились і вітчизняні оператори. І виробництво, і імпорт продуктів для дитячого харчування помітно виросли. Але, в той же час, суттєво збільшилась кількість новонароджених українців після демографічної кризи 90-х років [2, 3]. Тому ринок дитячого харчування в Україні хоч і виріс, все ж залишається далеким від насичення [2, 3]. Сьогодні цей сегмент ринку знаходиться на стадії розвитку, причому з високим потенціалом росту. Однак, слід звернути увагу, що він доволі специфічний і вимагає детального аналізу [3].

За період з 1990 по 2005 рр. виробництво молочних продуктів для дитячого харчування в Україні скоротилось у 8 разів [2, 3]. З 2006 по 2010 рр. виробництво рідких та пастоподібних молочних продуктів для дитячого харчування в Україні збільшилось у 6 раз і склало в 2010 році майже 14 тис. тонн, в той же час виробництво сухих продуктів для дитячого харчування на молочній основі скоротилось майже на 40%. Розвитку виробництва дитячих молочних продуктів сприяло прийняття у 2006 році «Закону про дитяче харчування» [4].

Внутрішній обсяг виробництва продуктів для дитячого харчування у 2012 р. склав 24,2 тис. тонн, що на 22 % перевищило такий у 2011 р., в т.ч. кількість спеціалізованих молочних продуктів для дитячого харчування у 2012 р. збільшилась на 25 % у порівнянні з 2011 роком і склала 12 тис. тонн. У 2013 р. виробництво продуктів для дитячого харчування збільшилось майже на 46,0 %, причому такий суттєвий ріст, в основному, було забезпечено за рахунок збільшення випуску спеціалізованої молочної продукції для дітей: її виробництво зросло майже на 70,0% у порівнянні з 2012 р. і склало 20,4 тис. тонн [2, 3]. Ріст кількості продукції даного сегменту пов'язаний із запуском у 2012 р. двох спеціалізованих підприємств з виробництва молочних продуктів для дитячого харчування – заводу «Яготинське для дітей» компанії «Молочний альянс» і заводу «Агуша» компанії «Вімм-Білл-Данн Україна» [3].

Дитячі молочні продукти поділяють на п'ять груп. До кожної з груп віднесено продукти з урахуванням вікових особливостей дітей і

ступеню адаптації до жіночого молока. Перша група включає продукти, які забезпечують харчування дітей від народження до 6-ти місяців життя. Друга – продукти, які забезпечують харчування дітей у віці від 6-ти місяців до одного року. До третьої групи включено продукти, якими забезпечується харчування дітей від одного до трьох років. Четверта група об'єднує продукти, якими забезпечується харчування дітей від 3-ох до 6-ти річного віку, п'ята – продукти, якими забезпечується харчування дітей шкільного віку [1, 5].

Пробіотичні бактерії, які вводять до складу заквашувальних композицій для виробництва кисломолочних продуктів для дитячого харчування, сприяють нормалізації мікробіоценозу кишечника та підвищенню імунного статусу організму дитини [1, 5]. Найчастіше у складі пробіотиків застосовують живі культури біфідобактерій і молочнокислих бактерій, зокрема лактобацил [1, 5]. Пробіотичні культури біфідобактерій мають високу біологічну активність і забезпечують низку важливих функцій в організмі малюків [6-8]. Для виробництва кисломолочних продуктів для дитячого харчування доцільно розробити триштамову заквашувальну композицію, яка відповідала б мікробіологічному пулу кишечника малюків і включала б всі три види біфідобактерій (*B. bifidum*, *B. longum* та *B. infantis*), які його колонізують, створюючи в ньому сприятливу фізіологічну композицію [9]. Така заквашувальна композиція могла б бути використана для розробки технологій біфідовмісних молочних продуктів для дитячого харчування третьої та четвертої груп згідно класифікації, наведеної в [10].

Тому науково-практичне обґрунтування складу триштамової заквашувальної композиції зі змішаних культур (ЗК) адаптованих до молока біфідобактерій (ББ) для виробництва ферментованих молочних продуктів для дитячого харчування з тривалим терміном зберігання є актуальним завданням сьогодення.

Для вирішення поставленого завдання необхідно:

- визначити закономірності культивування монокультур (МК) *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ та *B. infantis* 512 в стерилізованому молоці з використанням біфідогенних факторів (БФ);

- встановити особливості спільного культивування ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 в стерилізованому молоці з використанням БФ та науково обґрунтувати склад триштамової заквашувальної композиції зі ЗК ББ для виробництва ферментованих молочних продуктів для дитячого харчування;

- навести рекомендації щодо використання розробленої заквашувальної композиції зі ЗК ББ у технологіях кисломолочних продуктів для дитячого харчування з тривалим терміном зберігання.

## 11.2. Закономірності культивування монокультур адаптованих до молока біфідобактерій у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою

Для встановлення закономірностей культивування адаптованих до молока МК *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ та *B. infantis* 512 у стерилізованому при температурі  $(120 \pm 1)^\circ \text{C}$  протягом  $(20 \pm 1)$  хв молоці з масовою часткою жиру 1,5%, збагаченому фруктозою як БФ (масова частка фруктози – 0,1%) досліджували процес ферментації молока при температурі  $37 \dots 38^\circ \text{C}$  вказаними МК ББ.

У стерилізоване охолоджене до температури заквашування молоко вносили МК ББ у кількості  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>. Ферментацію всіх заквашених зразків здійснювали при температурі  $37 \dots 38^\circ \text{C}$  до досягнення активної кислотності 4,6...4,7. В процесі ферментації досліджуваних зразків в них визначали активність кислотоутворення за змінами титрованої та активної кислотності, в'язкість (рис. 11.1 та 11.2), кількість життєздатних клітин ББ у 1 см<sup>3</sup>, а також розраховували питому швидкість росту клітин ББ у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою (рис. 3 та 4) [9, 11-12].

При ферментації стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, МК *B. bifidum* 1 (рис. 11.1, б та 11.3, б) гелеутворення експериментальних зразків, в яких вихідна концентрація культури складала  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, триває 6,0 та 7,5 год., відповідно; за цей час досягається ізoeлектричний стан білків молока (активна кислотність зразків складає 4,63...4,70) під впливом суміші молочної та оцтової кислот, накопичених МК *B. bifidum* 1 при розщепленні цукрів (лактози молока та фруктози, внесеної у нормалізоване молоко). Ферментація зразків, заквашених МК *B. longum* ЯЗ у кількості  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, триває 6,0 та 7,5 годин, відповідно, як і при використанні МК *B. bifidum* 1; активна кислотність ферментованих згустків складає 4,60...4,69. Отримані дані підтверджують той факт, що використані культури *B. bifidum* 1 та *B. longum* ЯЗ є сильними кислотоутворювачами, що вказує на перспективність їх використання у складі заквашувальних композицій зі змішаних культур ББ для інтенсифікації біотехнологічного оброблення молока при виробництві кисломолочних продуктів для дитячого харчування.

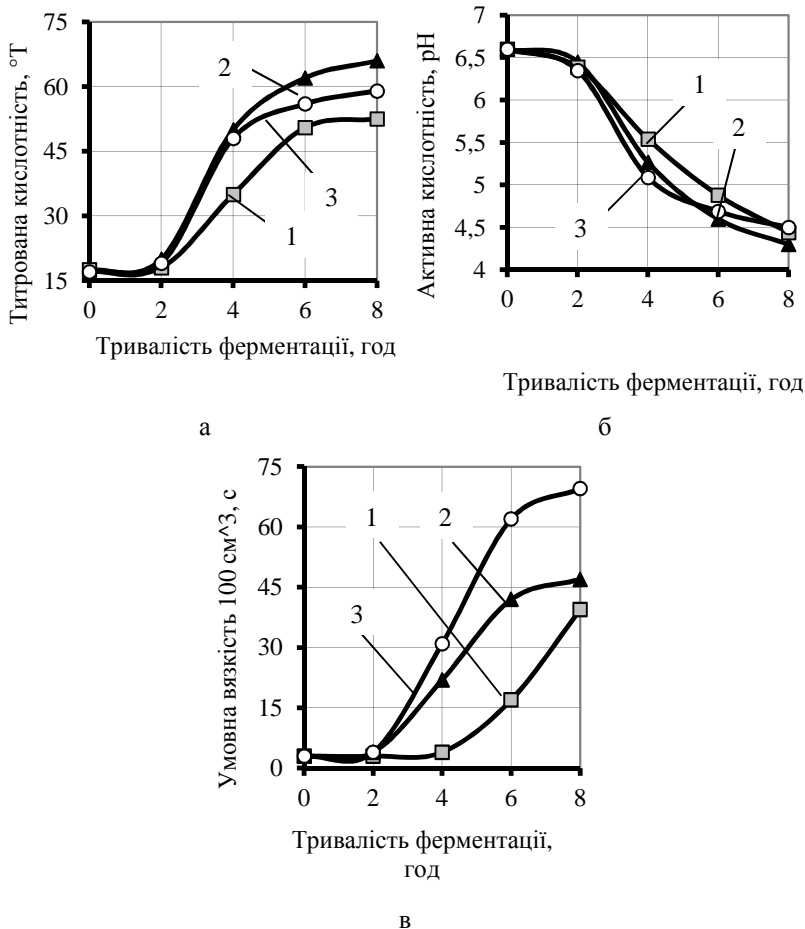


Рис. 11. 1. Зміна титрованої (а) й активної (б) кислотності, в'язкості (в) стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, при ферментації: 1 – МК *B. infantis* 512; 2 – МК *B. bifidum* 1; 3 – МК *B. longum* ЯЗ (вихідна концентрація культур у молоці  $1 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>)

МК *B. infantis* 512, виділені з медичного препарату «Лінекс» і адаптовані до молока, відносяться до менш сильних кислотоутворювачів, оскільки вони ферментують стерилізоване молоко в присутності

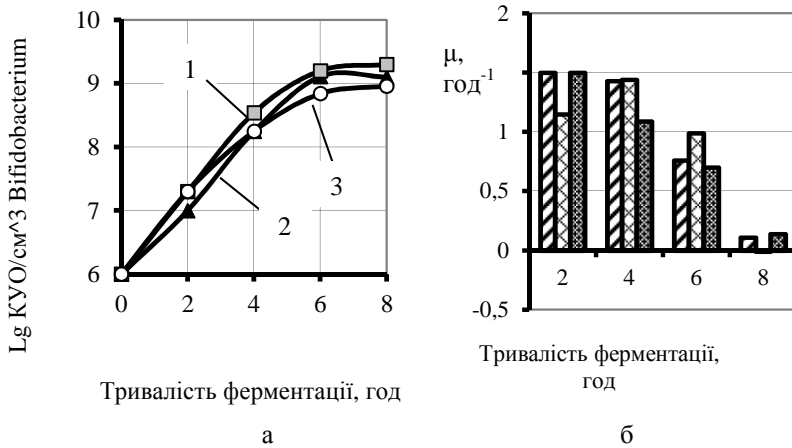


Рис. 11.2. Зміна кількості життєздатних клітин ББ у  $1 \text{ см}^3$  (а), питома швидкість росту клітин ББ (б) у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою при ферментації: 1, ■ – МК *B. infantis* 512; 2, ○ – МК *B. bifidum* 1; 3, △ – МК *B. longum* ЯЗ (вихідна концентрація культур у молоці  $1 \cdot 10^6 \text{ KYO/cm}^3$ )

фруктози довше, ніж МК *B. bifidum* 1 або *B. longum* ЯЗ. МК *B. infantis* 512 при внесенні їх у процесі заквашування стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, у кількості  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5 \text{ KYO/cm}^3$  сквашують його за 7,5 та 8,0...8,5 год, відповідно (рис. 11.1, б, 11.3, б, відповідно). Це, напевне, пояснюється тим, що дані культури виробляють меншу кількість екзогенних глікозидаз, в т.ч., лактази [6-8, 10-11], що обумовлює повільніше наростання титрованої та зниження активної кислотності у молоці (в порівнянні з ферментацією його МК *B. bifidum* 1 та МК *B. longum* ЯЗ) і створює умови для розвитку залишкової термофільної мікрофлори при виробництві кисломолочних продуктів для дитячого харчування. Тому для виробництва цієї групи продуктів МК *B. infantis* 512 доцільно комбінувати у складі триштамової заквашувальної композиції зі змішаних культур ББ з МК *B. bifidum* 1 та МК *B. longum* ЯЗ.

Титрована кислотність ферментованих МК *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ та *B. infantis* 512 зразків складає 62...63, 55...56 та 51...53° Т, відповідно (рис. 11.1а, 11.3а). Нижчий рівень титрованої кислотності отриманих пробіотичних згустків у порівнянні з традиційними кисломолочними продуктами – кефіром, ацидофіліном, ряжанкою,

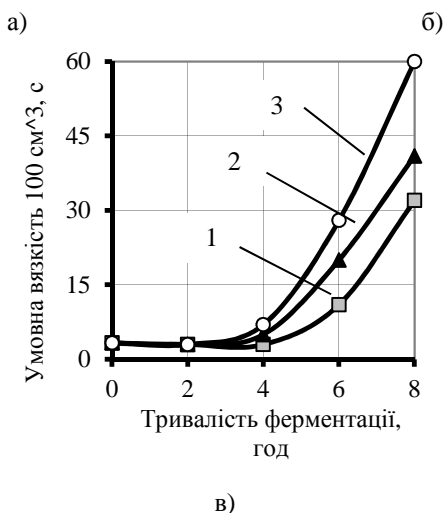
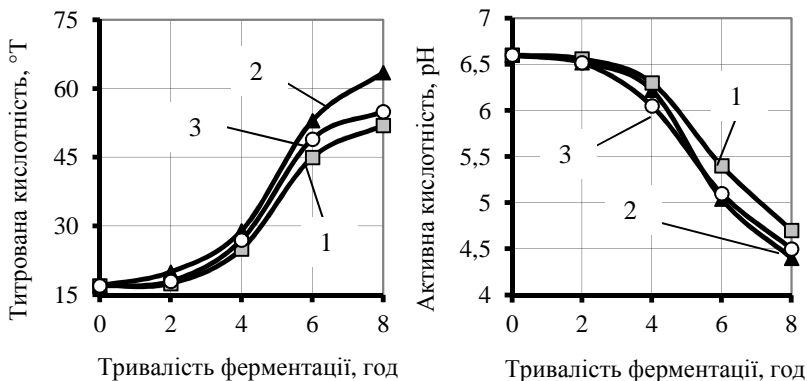


Рис. 11.3. Зміна титрованої (а) й активної (б) кислотності, в'язкості (в) стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, при ферментації: 1 – МК *B. infantis* 512; 2 – МК *B. bifidum* 1; 3 – МК *B. longum* ЯЗ (вихідна концентрація культур у молоці  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>)

пояснюється тим, що оцтова кислота, яка, поряд з молочною, утворюється при бродінні цукрів МК ББ, є більш сильним елект-



ролітом у порівнянні з молочною. Найнижчий рівень титрованої

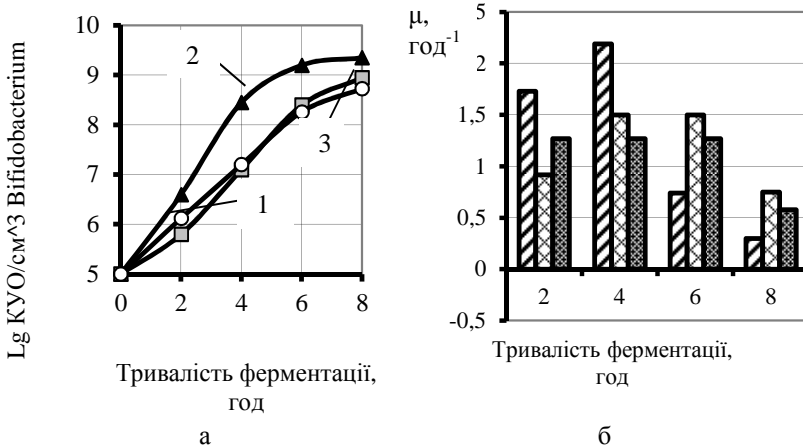


Рис. 11.4. Зміна кількості життєздатних клітин ББ у 1 см³ (а), пітма швидкість росту клітин ББ (б) у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою при ферментації: 1 – МК *B. infantis* 512; 2, – МК *B. bifidum* 1; 3 – МК *B. longum* ЯЗ (вихідна концентрація культур у молоці  $1 \cdot 10^5$  KYO/cm³)

кислотності мають згустки, ферментовані МК *B. infantis* 512, що, напевне, обумовлено накопиченням більшої кількості оцтової кислоти в них у порівнянні зі згустками, сквашеними МК *B. bifidum* 1 або *B. longum* ЯЗ. Найвищу титровану кислотність мають зразки, ферментовані МК *B. bifidum* 1, що дозволяє припустити, що вони накопичують менше оцтової кислоти і, відповідно, мають менш виражені антагоністичні властивості по відношенню до патогенної та умовно-патогенної мікрофлори (це припущення підтверджується результатами досліджень антагоністичної активності культур) [9].

В'язкість експериментальних зразків, ферментованих МК ББ, внесеними при заквашуванні у кількості  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5$  KYO/cm³ залишалась майже незмінною протягом 2,0 та 4,0 год., відповідно, оскільки протягом цього часу кислотність зразків наростала незначно (рис. 1в, 3, в). Найшвидше в'язкість наростала у зразках, ферментованих МК *B. longum* ЯЗ, що, напевне обумовлено тим, що ця культура виробляє екзогенні полісахариди. Згустки, отримані з її використанням, мають максимальну в'язкість (умовна в'язкість складає 60,0...69,5 с.), що обумовлює доцільність використання МК *B. longum* ЯЗ у складі заквашувальних композицій для виробництва ферментованих молочних

напоїв дитячого харчування. Мінімальну в'язкість (умовна в'язкість 30,5...39,0 с.) мають згустки, отримані ферментацією стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, МК *B. infantis* 512; згустки, отримані з використанням МК *B. bifidum* 1, мають умовну в'язкість 41,0...47,0 с.

Максимальну кількість життєздатних клітин ББ –  $(2,3 \pm 0,7) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> (рис. 2, а, 4, а) мають зразки, ферментовані МК *B. infantis* 512, що пояснюється тим, що вони є менш активними кислотоутворювачами і не так швидко, як МК *B. bifidum* 1 та *B. longum* ЯЗ знижують активну кислотність молока у процесі ферментації. Згустки, отримані сквашуванням стерилізованого молока МК *B. bifidum* 1 та *B. longum* ЯЗ, також мають високу кількість життєздатних клітин ББ –  $(0,5 \pm 0,5) \cdot 10^9$  та  $(8,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>, відповідно (рис. 2а, 4а).

Згустки, отримані сквашуванням стерилізованого молока МК *B. infantis* 512, внесеними при заквашуванні у кількості  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, мають практично однакову кількість життєздатних клітин ББ. Однак, при ферментації молока вказаними МК ББ, внесеними у кількості  $1 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>, вони мають практично сталу питому швидкість росту ( $1,43 \dots 1,50$  год<sup>-1</sup>) протягом 4 год. ферментації (рис. 2, а), що забезпечить їх активний розвиток у молоці у складі заквашувальної композиції з більш сильними кислотоутворювачами. З 4-ої по 6-ту години ферментації культура має питому швидкість росту  $0,87 \dots 0,90$  год<sup>-1</sup>, після чого переходить до стадії відмирання. При культивуванні МК *B. infantis* 512, внесених у молоко при заквашуванні у кількості  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, вони протягом перших 4 годин ферментації мають вищу питому швидкість росту ( $1,73 \dots 2,19$  год<sup>-1</sup>), ніж при внесенні їх у кількості  $1 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>, однак питома швидкість росту МК *B. bifidum* 1 та МК *B. longum* ЯЗ, внесених у молоко при заквашуванні у кількості  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, набагато нижча –  $0,92 \dots 1,50$  год<sup>-1</sup> (рис. 4, б), що може сприяти пригніченню росту і розвитку МК ББ при спільному їх культивуванні у складі заквашувальної композиції у співвідношенні 1:1 при вихідній концентрації  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>. Отже, МК *B. infantis* 512 та МК *B. bifidum* 1 у складі заквашувальної композиції доцільно комбінувати у співвідношенні 10:1 для забезпечення вихідної концентрації клітин у молоці  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, відповідно. При цьому тривалість ферментації молока обома культурами складає 7,5 год.

МК *B. longum* ЯЗ при внесенні їх у молоко у кількості  $1 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup> протягом перших двох годин ферментації мають таку ж питому швидкість росту, як і МК *B. infantis* 512 –  $1,50$  год<sup>-1</sup>, що може обумовлювати пригнічення останньої культури при спільному культивуванні, оскільки вона є менш активним кислотоутворювачем. При культивуванні МК *B. longum* ЯЗ у стерилізованому молоці при вихід-

ній концентрації  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup> вони мають сталу питому швидкість росту протягом 6-ти годин ферментації  $1,27 \dots 1,30 \text{ год}^{-1}$  (рис. 4, б), яка з 2-ої по 6-ту годину ферментації нижча у порівнянні з іншими двома культурами, однак при цьому ферментують молоко за 7,5 год., що вказує на те, що вони є найактивнішими кислотоутворювачами з трьох досліджуваних МК ББ. Отже, МК *B. infantis* 512 з МК *B. longum* ЯЗ у складі заквашувальної композиції також доцільно комбінувати у співвідношенні 10:1 для забезпечення вихідної концентрації клітин у молюці  $1 \cdot 10^6$  та  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, відповідно.

Отже, можна висловити припущення, що комбінування МК *B. bifidum* 1 + МК *B. longum* ЯЗ + МК *B. infantis* 512 у співвідношенні 1:1:10 дозволить зберегти ріст кожної з них у складі заквашувальної композиції зі змішаних культур і отримати ферментовані молочні згустки з високою кількістю життєздатних клітин ББ, максимально високими пробіотичними та антагоністичними властивостями.

Ферментовані МК ББ згустки мають високі органолептичні показники, зокрема смак та запах, що обумовлено нижчим рівнем титрованої кислотності в них у порівнянні з традиційними кисломолочними продуктами. Консистенція отриманих згустків суттєво відрізняється від тих, які отримуються при сквашуванні молока молочнокислими бактеріями: вона більш ніжна, м'яка, сметаноподібна, що пояснюється меншою кількістю екзогенних полісахаридів, які виробляють у процесі метаболізму ББ [6-8, 10-11]. Згустки добре відокремлюють сироватку при незначному пережовуванні (до pH=4,40...4,50), що сприятиме скороченню тривалості синерезису у виробництві білкових пастоподібних ферментованих молочних продуктів; в той же час вони мають досить щільну, сметаноподібну консистенцію без відстою сироватки при сквашуванні до pH=4,65...4,70, що має суттєве значення при виробництві кисломолочних напоїв для дитячого харчування.

### **11.3. Біотехнологічні особливості культивування змішаних культур адаптованих до молока біфідобактерій у стерилізованому молюці, збагаченому фруктозою**

Для встановлення біотехнологічних особливостей росту та розвитку ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 досліджували процес ферментації стерилізованого молюка з додаванням фруктози як БФ складеною заквашувальною композицією зі ЗК ББ і порівнювали отримані результати з параметрами культивування відповідних МК ББ. Заквашувальну композицію вносили у кількості, яка забезпечувала

вихідну концентрацію ББ  $1,2 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>; в т.ч. *B. bifidum* 1 –  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, *B. longum* ЯЗ –  $1 \cdot 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>, *B. infantis* 512 –  $1 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>. В процесі ферментації досліджуваних зразків в них контролювали активність кислотоутворення за зміною титрованої й активної кислотності, в'язкість (рис. 5), кількість життєздатних клітин ББ у 1 см<sup>3</sup> і розраховували питому швидкість росту клітин ЗК ББ (рис. 6); відповідні показники якості визначали в процесі ферментації молока, збагаченого фруктозою, МК ББ, внесеними у молоко в аналогічних вказаним концентраціях.

Гелеутворення білків у стерилізованому молоці, ферментованому ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 завершується через 6,0 год., тоді як у зразках, ферментованих МК ББ – через 7,5 год. (рис. 5, б). Питома швидкість росту ЗК ББ у процесі ферментації стерилізованого молока протягом перших двох годин ферментації відповідає такій для МК *B. infantis* 512 і вища, ніж питома швидкість росту двох інших МК ББ, введених до складу заквашувальної композиції; з 2-ої по 4-ту години ферментації МК ББ перевищує таку для МК *B. infantis* 512 і МК *B. longum* ЯЗ і відповідає питомій швидкості росту МК *B. bifidum* 1 (рис. 11.6, б). Це свідчить про синергізм використаних у складі триштамової закваски МК ББ протягом перших 4-ох годин ферментації, що й сприяє її інтенсифікації. Тому кількість життєздатних клітин ББ у згустку, отриманому ферментацією ЗК ББ, вища –  $(5,8...6,2) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>, ніж у згустках, отриманих ферментацією МК ББ (рис. 6, а), що забезпечить високі пробіотичні властивості кисломолочних продуктів для дитячого харчування, вироблених з використанням розробленої триштамової заквашувальної композиції.

Синергізм у складі заквашувальної композиції обумовлений тим, що МК *B. bifidum* 1 і МК *B. longum* ЯЗ як більш активні кислотоутворювачі відразу після заквашування гідролізують лактозу до моноцукрів, використовуючи для росту та розвитку внесену до молока фруктозу. Моноцукри, отримані при гідролізі (зокрема, глюкоза), виконують роль БФ для МК *B. infantis* 512, підвищуючи їх власну  $\beta$ -галактозидазну активність. В свою чергу, МК *B. infantis* 512 у процесі росту продукує екзогенні протеолітичні ферменти, які гідролізують білки молока з утворенням пептидів та амінокислот, оскільки мають найвищу протеолітичну активність серед досліджених культур. Пептиди й амінокислоти стимулюють ріст і розвиток *B. bifidum* 1 і *B. longum* ЯЗ у складі заквашувальної композиції, тому гелеутворення білків стерилізованого молока при його ферментації ЗК ББ завершується швидше, ніж при ферментації кожною окремо взятою МК ББ.

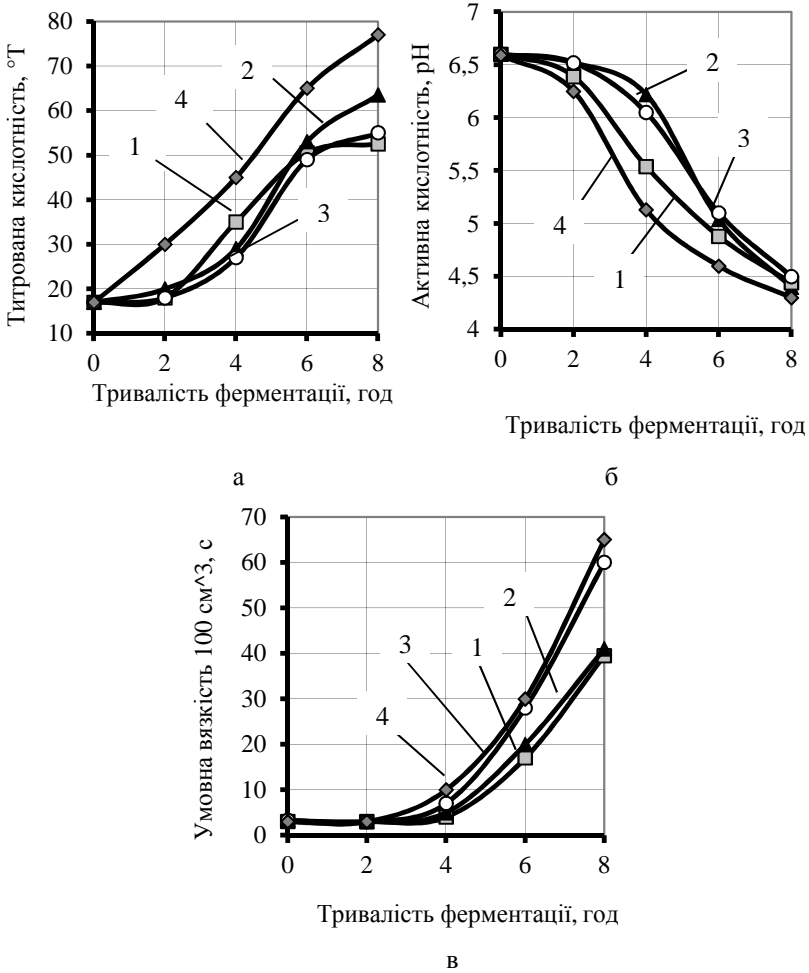


Рис. 11.5. Зміна титрованої (а) й активної (б) кислотності, в'язкості (в) у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою, при ферментації: 1 – МК *B. infantis* 512; 2 – МК *B. bifidum* 1; 3 – МК *B. longum* ЯЗ; 4 – 3К *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512

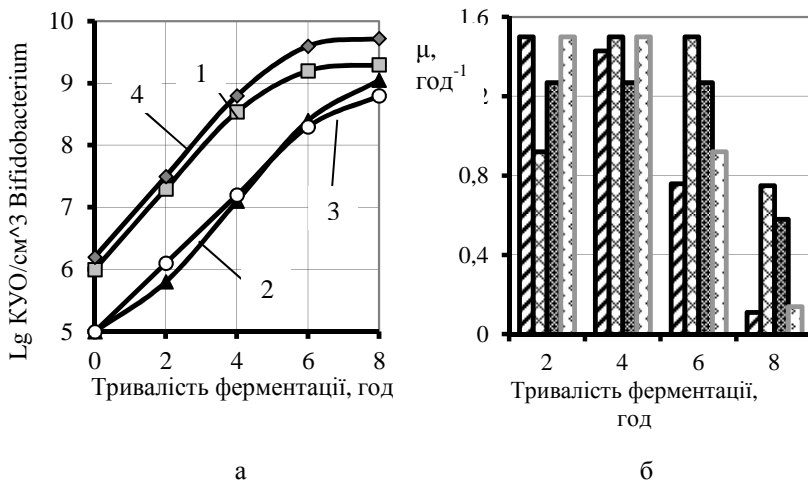


Рис. 11.6. Зміна кількості життєздатних клітин ББ у 1 см<sup>3</sup> (а), питома швидкість росту клітин ББ (б) у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою при ферментації: 1, [шашкований квадрат] – МК *B. infantis* 512; 2, [діагональні лінії] – МК *B. bifidum* 1; 3, [хрестик] – МК *B. longum* ЯЗ; 4, [квадрат] – ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512

Результати експериментальних досліджень кількості життєздатних клітин ББ у зразках при ферментації (рис. 6а) також доводять правильність вибору співвідношень МК ББ у складі композиції зі ЗК, оскільки протягом всього процесу ферментації кількість життєздатних клітин ЗК ББ перевищує сумарну кількість окремо взятих МК ББ, що також свідчить про синергетичний ефект між МК *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ та *B. infantis* 512, включеними до складу заквашувальної композиції [12]. Фаза активного росту для всіх досліджених МК ББ починалася відразу після інокуляції і продовжувалася 6 годин для МК *B. infantis* 512, після чого вони переходили до стаціонарної фази росту, і 8 годин – для МК *B. bifidum* 1 і *B. longum* ЯЗ (рис. 11.6, а). Для ЗК ББ фаза активного росту також починалася відразу після інокуляції і продовжувалася протягом 6,0 годин, доки тривав процес сквашування стерилізованого молока, після чого ЗК ББ, як і МК *B. infantis* 512, переходили до стаціонарної фази росту.

Титрована кислотність згустку, отриманого з використанням ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512, складає 64...65° Т (рис. 11.5а), що забезпечить невисокий рівень кислотності та високі органолептичні показники, зокрема смак та запах, у кисломолочних продук-

тах дитячого харчування, отриманих з нього. В'язкість досліджуваного згустку перевищує таку для кожної окремо взятої МК ББ і знаходиться на рівні, який забезпечує сметаноподібну в'язку однорідну консистенцію згустку (рис. 11.5в).

Отже, проведені дослідження свідчать про виникнення синергізму між МК *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ та *B. infantis* 512, включеними до складу триштамової заквашувальної композиції, і перспективність використання розробленої заквашувальної композиції зі ЗК ББ у технологіях біфідовмісних ферментованих молочних продуктів дитячого харчування третьої та четвертої груп (за класифікацією, наведеною в [10]), оскільки вона має високі біологічні властивості та необхідний технологічний потенціал.

Важливим фактором у виробництві біфідовмісних кисломолочних продуктів, в т.ч. для дитячого харчування, є стійкість ББ до низьких температур зберігання (2...6° С), які використовують у технології цих продуктів, та низьких значень активної кислотності (рН=4,4...4,6), характерних для них. Тому необхідним етапом експериментальних досліджень стало визначення показників якості ферментованих пробіотичних згустків, отриманих у процесі біотехнологічного оброблення стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, МК ББ та розробленою заквашувальною композицією зі ЗК ББ, у процесі зберігання при температурі 2...6° С.

Згустки, отримані ферментацією стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, адаптованими до молока МК *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ та *B. infantis* 512, внесеними при заквашуванні у кількості  $1 \cdot 10^5$ ,  $1 \cdot 10^5$  та  $1 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>, відповідно, та заквашувальною композицією зі ЗК ББ, внесеною у кількості  $1,2 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>, охолоджували до 2...6° С і зберігали при цій температурі. При зберіганні пробіотичних згустків контролювали зміну їх кислотності (титрованої й активної), в'язкості, кількості життєздатних клітин *Bifidobacterium* в 1 см<sup>3</sup> протягом 21 доби з інтервалом у 7 діб (рис. 7), а також зміну органолептичних показників [12].

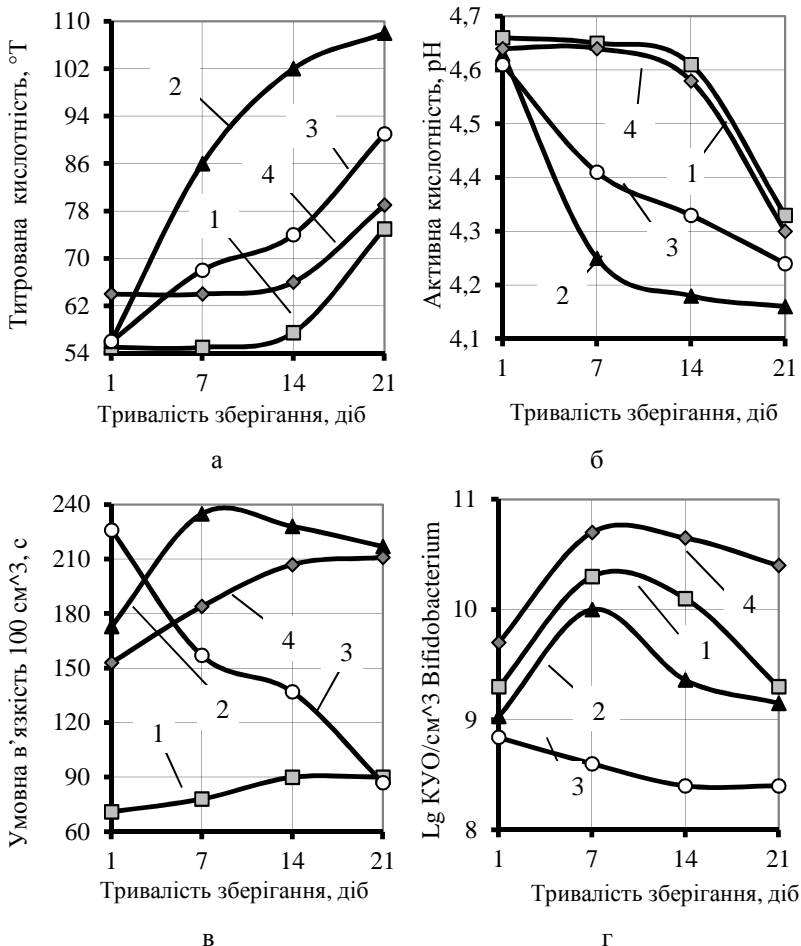


Рис. 11.7. Зміна титрованої (а), активної (б) кислотності, умовної в'язкості (в), кількості життєздатних клітин *Bifidobacterium* у 1 см<sup>3</sup> (г) у процесі зберігання експериментальних зразків, отриманих при ферментації стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, адаптованими до молока:

1 – МК *B. infantis* 512; 2 – МК *B. bifidum* 1;  
3 – МК *B. longum* ЯЗ; 4 – ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512

Починаючи з 1-ої доби зберігання у експериментальних зразках, отриманих ферментацією стерилізованого молока МК *B. bifidum* 1 та



*B. longum* ЯЗ, починалось наростання титрованої та зниження активної кислотності, що обумовлено тим, що ці культури є активними кислотоутворювачами. Титрована кислотність згустку, ферментовано-го МК *B. bifidum* 1, наростала дуже стрімко і на 7-му, 14-ту і 21-шу добу досягала високих значень – 85,0...86,5; 102,0...103,0 та 107,0...108,5 °Т, відповідно; активна при цьому складала 4,25...4,26; 4,18...4,20 та 4,16...4,17 рН, відповідно (рис. 7а, б). Загальна кислотність згустку, ферментованого МК *B. longum* ЯЗ, наростала менш стрімко і на 7-му, 14-ту і 21-шу добу складала 68,0...68,5; 74,0...75,0 та 91,0...92,0° Т, відповідно; активна кислотність складала 4,41...4,42; 4,33...4,34 та 4,25...4,26 рН, відповідно (рис. 11.7а, б). Наростання титрованої та зниження активної кислотності у досліджених згустках свідчить про те, що у процесі зберігання МК *B. bifidum* 1 та *B. longum* ЯЗ виробляють активну позаклітинну β-галактозидазу, яка ініціює зброджування лактози, що залишилась у згустках після ферментації, до молочної та оцтової кислот [6, 10-11]. Більш стрімке наростання кислотності у згустку, ферментованому МК *B. bifidum* 1, пояснюється збільшенням на порядок кількості життєздатних клітин цієї культури протягом перших 7-ми діб зберігання (рис. 7г), тоді як клітини МК *B. longum* ЯЗ після 1-ої доби зберігання починають відмирати, однак їх кількість протягом всього дослідженого терміну зберігання (21 доба) залишається досить високою –  $(6,2 \pm 2,2) \cdot 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>. Кількість життєздатних клітин *B. bifidum* 1 протягом 21-єї доби зберігання дуже висока –  $(5,1 \pm 4,9) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> (рис. 11.7г), що обумовлено вищою їх стійкістю до підвищеного вмісту молочної кислоти в порівнянні з МК *B. longum* ЯЗ. До того ж, МК *B. bifidum* 1 накопичують більше молочної і менше оцтової кислоти, тоді як МК *B. longum* ЯЗ накопичують більше оцтової кислоти, про що також свідчить дуже інтенсивне наростання титрованої кислотності в згустку, отриманому ферментацією стерилізованого молока МК *B. bifidum* 1 (рис. 11.7а).

Смак та запах згустку, отриманого з використанням МК *B. bifidum* 1 на 7-му добу був вираженим кисломолочним, без сторонніх присмаків та запахів, після чого (на 14-ту та 21-шу добу) смак був занадто кислим, що недопустимо у ферментованих молочних продуктах дитячого харчування. У згустку, отриманому з використанням МК *B. longum* ЯЗ, смак та запах залишались чистими, кисломолочним, без сторонніх присмаків та запахів протягом 14 діб зберігання і лише на 21-шу добу у ньому відзначався занадто виражений кисломолочний смак, нехарактерний для ферментованих молочних продуктів дитячого харчування.

На 1-шу добу зберігання згусток, отриманий ферментацією стерилізованого молока МК *B. longum* ЯЗ, мав максимальну в'язкість (умовна в'язкість складала 226...228 с), це пояснюється тим, що ця культура виробляє найбільшу кількість екзогенних полісахаридів [6-8, 10-11]. В'язкість згустку на 1-шу добу зберігання у 3,7 раз перевищувала таку для свіжосквашеного згустку (рис. 11.5в, 5в), що обумовлено його ущільненням при охолодженні та зберіганні. У процесі зберігання в'язкість згустку знижувалась, що обумовлено відмиранням клітин *B. longum* ЯЗ і виділенням після їх лізису ендогенних протеолітичних ферментів [6-8, 10-11]. Консистенція згустку протягом першої доби зберігання змінювалась: за рахунок його ущільнення вона зі сметаноподібної м'якої стала однорідною і в'язкою, без відділення сироватки і залишалась такою протягом 21 доби.

Умовна в'язкість згустку, отриманого з використанням МК *B. bifidum* 1, складала 173...175 с (рис. 11.7в), що в 4,3 рази перевищувало таку для свіжовиготовленого продукту. При зберіганні протягом перших 7-ми діб в'язкість досліджуваного згустку збільшувалась, що обумовлено збільшенням кількості життєздатних клітин *B. bifidum* 1 в ньому (це сприяло ущільненню консистенції згустку); після 7-ої доби зберігання відмічалось зменшення в'язкості згустку, це пояснюється відмиранням клітин культури (рис. 7в, г). З 3-ої по 21-шу добу зберігання згусток, отриманий з використанням МК *B. bifidum* 1, мав найвищу в'язкість (у порівнянні з двома іншими досліджуваними МК ББ), що забезпечуватиме в'язку консистенцію у кисломолочних напоях дитячого харчування при використанні у їх технології заквашувальних композицій з цієї культури.

Титрована та активна кислотність згустку, отриманого ферментацією стерилізованого молока МК *B. infantis* 512, протягом перших 7 діб зберігання залишалася незмінною (55,0...55,5 Т та 4,65...4,66 pH, відповідно – рис. 11.7а,б), що свідчить про те, що ця культура у процесі росту та розвитку при зберіганні виробляє незначну кількість позаклітинної  $\beta$ -галактозидази [6-8], оскільки кількість життєздатних клітин *B. infantis* 512 протягом перших 7-ми діб зберігання збільшувалася з  $(3,0 \pm 0,2) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> до  $(2,8 \pm 0,4) \cdot 10^{10}$  КУО/см<sup>3</sup> (рис. 11.7, г). Протягом подальших 7-ми та 14-ти діб зберігання досліджуваного згустку відзначалося підвищення титрованої (до 57,5...58,0 та 75,5...76,0° Т, відповідно) та зниження активної (до 4,61...4,62 та 4,32...4,33 pH) кислотності, що, напевне, пояснюється виділенням активних ендогенних ферментів при відмиранні клітин *B. infantis* 512 протягом досліджуваного періоду. На 14-ту та 21-шу добу зберігання кількість життє-

здатних клітин *B. infantis* 512 у згустку складала  $(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$  та  $(2,9 \pm 0,3) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> відповідно (рис. 11.7г).

В'язкість згустку, отриманого з використанням МК *B. infantis* 512, була найнижчою серед усіх досліджених зразків: на 1-шу добу зберігання умовна в'язкість складала 71...72 с; через 7, 14 та 21 добу зберігання – 78...79, 90...91, 90...91 с, відповідно (рис. 11.7в). Невисока в'язкість досліджуваного згустку обумовлена тим, що МК *B. infantis* 512 продукують більш активні екзогенні протеолітичні ферменти в порівнянні з двома іншими МК ББ, що сприяє частковому гідролізу білків у згустку. Збільшення в'язкості згустку при зберіганні може бути обумовлено тим, що МК *B. infantis* 512 продукують незначну кількість полісахаридних компонентів. Консистенція згустку протягом всього дослідженого періоду зберігання була однорідною сметаноподібною, без відділення сироватки.

При зберіганні згустку, отриманого ферментацією стерилізованого молока з використанням розробленої заквашувальної композиції, характер змін титрованої й активної кислотності, кількості життєздатних клітин ЗК ББ та в'язкості аналогічні характеру змін аналогічних показників у згустку, отриманому з використанням МК *B. infantis* 512, що свідчить про переважання цих МК ББ у ньому. Протягом перших 7 діб зберігання кислотність згустку залишалась сталою ( $63...64^\circ$  Т та 4,63...4,64 рН), при цьому кількість життєздатних клітин ББ збільшилась на порядок – з  $(7,0 \pm 0,1) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> до  $(6,8 \pm 0,4) \cdot 10^{10}$  КУО/см<sup>3</sup> (рис. 11.7а,б,г). Напевне, збільшення кількості життєздатних клітин ЗК ББ відбувалося, в основному за рахунок збільшення концентрації клітин МК *B. infantis* 512, оскільки при наростанні її біомаси у монокультурі не відзначався ріст кислотності згустку. Протягом подальших 7-ми діб зберігання згустку відзначалися незначний ріст титрованої (до  $66...68^\circ$  Т) і зниження активної (до 4,37...4,38 рН) кислотності; при цьому кількість життєздатних клітин ЗК ББ залишалась практично сталою –  $(6,75 \pm 0,25) \cdot 10^{10}$  КУО/см<sup>3</sup>. Протягом 14 діб зберігання згусток мав чистий, кисломолочний ніжний смак і запах, без сторонніх присмаків та запахів. З 14-ої по 21-шу добу зберігання зміни кислотності були більш значними: на 21-шу добу титрована кислотність складала  $78...80^\circ$  Т, активна – 4,29...4,30 рН (рис. 11.7а,б), що обумовило надлишковий кислуватий присмак і запах згустку, нехарактерний для кисломолочних продуктів для дитячого харчування. ББ після 14 діб зберігання почали відмирати, але їх кількість у згустку на 21-шу добу залишалась високою і склала  $(3,8 \pm 0,3) \cdot 10^{10}$  КУО/см<sup>3</sup>. Висока концентрація життєздатних клітин ЗК ББ у згустку протягом всього процесу зберігання свідчить про симбіоз у складеній заквашувальній компози-

ції, оскільки кількість клітин ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 перевищувала сумарну кількість клітин відповідних МК ББ (рис. 11.7г).

Умовна в'язкість згустку, отриманого ферментацією стерилізованого молока з використанням розробленої заквашувальної композиції, на 1-шу добу зберігання складала 153...155 с, що у 2,4 рази перевищувало таку для свіжовиготовленого згустку (рис. 11.7в). На 7-му та 14-ту добу зберігання в'язкість збільшилась у 1,2 та 1,4 рази, відповідно, у порівнянні з 1-ою добою зберігання, після чого залишалася сталою. Такі значення в'язкості згустку свідчать про присутність у ньому всіх трьох введених до складу заквашувальної композиції МК ББ з переважанням МК *B. infantis* 512 і обумовлюють в ньому в'язку, однорідну, сметаноподібну консистенцію без відділення сироватки протягом всього терміну зберігання.

З огляду на наведені результати досліджень, можна стверджувати, що рекомендований склад триштамової заквашувальної композиції зі ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 у співвідношенні 1:1:10 забезпечує отримання ферментованих згустків з високими органолептичними, фізико-хімічними, пробіотичними, антагоністичними властивостями та нормованими реологічними характеристиками, які зберігаються протягом тривалого терміну (не менше 14 діб) і можуть бути рекомендовані як основа для виробництва біфідовмісних кисломолочних продуктів дитячого харчування третьої та четвертої груп з подовженим терміном зберігання.

## **Висновки**

1. Встановлено закономірності культивування монокультур адаптованих до молока біфідобактерій – МК *B. bifidum* 1, МК *B. longum* ЯЗ та МК *B. infantis* 512 у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою як біфідогенним фактором.

2. Науково обґрунтовано раціональне співвідношення між адаптованими до молока монокультурами *Bifidobacterium* у складі заквашувальної композиції зі змішаних культур біфідобактерій для виробництва ферментованих молочних продуктів для дитячого харчування з підвищеними пробіотичними властивостями – МК *B. bifidum* 1 + МК *B. longum* ЯЗ + МК *B. infantis* 512 у співвідношенні 1:1:10; вихідна концентрація життєздатних клітин біфідобактерій при інокуляції повинна складати  $1 \cdot 10^5$ ,  $1 \cdot 10^5$  та  $1 \cdot 10^6$  КУО/см<sup>3</sup>, відповідно.

3. Експериментально доведено виникнення синергізму між монокультурами *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ та *B. infantis* 512, включеними до складу триштамової заквашувальної композиції.

4. Розроблена заквашувальна композиція зі змішаних культур біфідобактерій спільно з монокультурами/змішаними культурами молочнокислих бактерій [13] використана у технологіях біфідовмісних ферментованих молочних продуктів – напоїв кисломолочних [14, 15], пастоподібних білкових молочних продуктів – сиру кисломолочного [16] й виробів з нього, білкових паст тощо, для дитячого харчування з подовженим терміном зберігання (10-21 діб), які за класифікацією біфідовмісних молочних продуктів [10] відносяться до четвертої групи.

5. Заквашувальна композиція зі ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 може бути використана у технологіях напоїв кисломолочних та білкових пастоподібних продуктів (молочних і комбінованих) для дитячого харчування з підвищеними пробіотичними властивостями, які за класифікацією біфідовмісних молочних продуктів [10] відносяться до третьої групи.

### Список використаних джерел

1. Кузнецов В.В., Липатова Н.Н. (2005), *Справочник технолога молочного производства. Технология детских молочных продуктов*, ГИОРД, Санкт-Петербург.
2. *Украинский рынок молочных продуктов детского питания, Инфагро*, Режим доступа: <http://infagro.com.ua/ru/Product/Yes/37/>.
3. *Обзор рынка детского питания в Украине, BABY EXPO*, Режим доступа: [http://babyexpo.ua/baby\\_expo/news\\_baby\\_expo/detail.php?ELEMENT\\_ID=5788](http://babyexpo.ua/baby_expo/news_baby_expo/detail.php?ELEMENT_ID=5788).
4. *Про дитяче харчування*, Закон України № 142-V від 14.09.2006 р., Відомості Верховної Ради України, Київ.
5. Касьянов Г.И. (2003), *Технология продуктов детского питания*, Академия, Москва.
6. Biavati B., Bottazzi V., Morelli L. (2001), *Probiotics and Bifidobacteria*, MOFIN ALCE, Novara.
7. Shah N.P. (1997), Bifidobacteria: Characteristics and potential for application in fermented milk products, *Milchwissenschaft*, 52 (1), pp. 16–20.
8. Molder H. W., Makellar R. C., Yaguchi M. (1999), Bifidobacteria and bifidogenic factors, *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 23 (1), pp. 29–41.

9. Назаренко Ю. В., Дідух Н. А. (2010), Обґрунтування вибору монокультур біфідобактерій для виробництва кисломолочних продуктів дитячого харчування, *Харчова наука і технологія*, 2, сс. 39–44.
10. Дідух Н. А., Чагаровський О. П., Лисогор Т. А. (2008), *Заквашувальні композиції для виробництва молочних продуктів функціонального призначення*, Видавництво «Поліграф», Одеса.
11. Степаненко П. П. (1999), *Микробиология молока и молочных продуктов*, ООО «Всё для Вас – Подмоскowie», Москва.
12. Дідух Н. А., Назаренко Ю. В. (2010), Дослідження процесу спільного культивування змішаних культур *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *Наук. праці молодих учених, аспірантів та студентів*, сс. 211–214.
13. Ткаченко Н. А., Назаренко Ю. В., Авершина А. С., Українцева Ю. С. (2014), Заквашувальні композиції для дитячих кисломолочних продуктів з підвищеними протеолітичними властивостями, *Восточно-Европейський журнал передових технологій*, 2/12(68), сс. 66–71.
14. Дідух Н. А., Романченко С. В. (2012), Наукові основи виробництва напою кисломолочного для дитячого харчування з подовженим терміном зберігання, *Наук. праці ОНАХТ*, 2, сс. 251–259.
15. Дідух Н. А., Авершина А. С. (2013), Наукові основи виробництва напою кисломолочного для дитячого харчування «Біолакт» з подовженим терміном зберігання, *Збірник праць Першої міжнародної спеціалізованої науково-практичної конференції «Дитяче харчування: перспективи розвитку та інноваційні технології» в рамках XVII Міжнародного Форуму товарів та послуг для дітей BABY EXPO*, сс. 121–126.
16. Назаренко Ю. В. (2011), Біотехнологія кисломолочного сиру дитячого харчування з подовженим терміном зберігання, *Харчова наука і технологія*, 2, сс. 41–45.